

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ СВИНЦЮ У МАКРОФОРМІ І У ВИГЛЯДІ ЦИТРАТУ, ОТРИМАНОГО ЗА НАНОТЕХНОЛОГІЄЮ, НА ПЕРЕБІГ ВАГІТНОСТІ ТА АНТЕНАТАЛЬНИЙ РОЗВИТОК ЩУРІВ

Е.М. Білецька, Н.М. Онул

Білецька Е. М. Вплив свинцю у макроформі і у вигляді цитрату, отриманого за нанотехнологією, на перебіг вагітності та антенатальний розвиток щурів / Е. М.

Білецька, Н. М. Онул // Медицина сьогодні і завтра. - 2013. - № 2. - С. 5-9

Державний Заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,

кафедра загальної гігієни, м. Дніпропетровськ

Науково-технічна революція зумовила появу нанотехнологій – технологій направленої отримання та використання речовин і матеріалів в діапазоні розмірів менше 100 нанометрів. Активне використання наночасток у різних сферах діяльності людини надає їм значення нового антропогенного чинника, який може бути потенційно небезпечним не тільки для здоров'я людини і тварини, але і для повноцінного існування екосистеми [1].

Переваги наночастинок, які відрізняють їх від макродисперсних форм речовин – малий розмір, структура, хімічний склад і велика площа поверхні роблять їх потенційно небезпечними для живих організмів, оскільки значно підвищують їх біологічну активність [1]. Безпечність наноматеріалів залежить від механізму їх патогенетичної дії, який включає оксидативний стрес, системну циркуляцію наноструктур в організмі, а також гено-, ембріо- і органотоксичний ефекти. За дії наночастинок розвиваються гострі і/або віддалені наслідки [2].

Особливу небезпеку можуть становити наноформи важких металів, зокрема свинцю. Сполуки свинцю широко розповсюджені у навколишньому середовищі та за даними ВООЗ є одними з основних забруднювачів довкілля на сьогоднішній день [3]. Навіть на рівні фактору малої інтенсивності вони характеризуються високою токсичністю [4] і здатністю до кумуляції як в

екосистемах, так і в організмі людини, що мешкає в умовах підвищеного техногенного навантаження, що особливо небезпечно для критичних верств населення – вагітних та дітей, оскільки призводить до погіршення здоров'я, в тому числі репродуктивного, детермінує розвиток ускладнень вагітності, пологів та післяпологового періоду, погіршення показників фізичного та інтелектуального розвитку дитини в подальшому [3, 4, 5, 6].

В останні роки частка токсикологічних досліджень з вивчення впливу наночасток на об'єкти довкілля та людину суттєво зросла [7]. Незважаючи на існуючі численні дані щодо ембріотоксичності свинцю, а також досить активні дослідження з впливу наноматеріалів на організм, вони майже не торкаються питань впливу низьких доз свинцю у макро- та наноформі, порівняльні аспекти їх токсичної дії практично відсутні. Тому експериментальні роботи із зазначеного напрямку є надзвичайно актуальними на сьогоднішній день.

Метою нашого дослідження є порівняльна оцінка впливу свинцю у макроформі і у вигляді цитрату, отриманого за нанотехнологією, на організм вагітних та антенатальний розвиток в умовах лабораторного експерименту на щурах.

Матеріали та методи. У експерименті використано методичні підходи, що відповідають сучасним міжнародним вимогам щодо проведення токсикологічних експериментів з використанням тварин згідно Європейської конвенції [8]. Тварин утримували в оптимальних умовах віварію на стандартному раціоні із вільним доступом до води та їжі відповідно до існуючих вимог [9]. Адаптаційний період складав 12 днів, протягом якого визначали загальний стан самиць, циклічність і тривалість естрального циклу.

Тварин зі стійким ритмом естрального циклу у віці 3-3,5 міс. з масою тіла 170-200 г в стадії проеструс і еструс парували з інтактними самцями за схемою 2:1. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у піхвових мазках [10].

В експериментальних моделях використовували розчини ацетату свинцю та цитрату свинцю, отриманого за нанотехнологією Українським державним НДІ нанобіотехнологій та ресурсозбереження (м. Київ).

Самиць щурів з датованим терміном вагітності розподілили на 3 групи, одна з яких – контрольна, 2 – дослідні. Дослідна група №1 отримувала ацетат свинцю, дослідна група №2 – цитрат свинцю. Досліджувані метали вводили самицям щурів внутрішньошлуночково за допомогою зонду з 1-го по 19-й день вагітності у дозі 0,05 мг/кг маси тіла по свинцю, що у 10 разів вище порівняно з рівнем його сумарного добового надходження в організм вагітних в умовах промислових територій та становить близько $1/30000$ LD₅₀. Щурам контрольної групи в ці ж строки вводили розчинник, що використовувався при приготуванні агенту впливу, тобто дистильовану воду.

Під час введення препарату реєстрували загальний стан і поведінку самок, масу та розміри тіла, ректальну температуру. Вимірювання маси, ректальної температури та краніокаудального розміру самиць проводили кожні 3-4 дні, тобто всього проведено 1050 вимірювань.

На кінцевому етапі дослідження проводили миттєву декапітацію тварин під тіопенталовим наркозом і взяття біологічних матеріалів для виконання подальших досліджень. Виділяли матку з рогами, плоди з плацентами вилучали з матки, перевіряли на тест «живі-загиблі», зважували, вимірювали краніокаудальний розмір та діаметр, визначали стать, розраховували масо-ростовий коефіцієнт плодів і плодово-плацентарний коефіцієнт, показники ембріональної смертності за загальноприйнятими методиками [10].

Всі отримані в роботі цифрові дані обробляли комп'ютерними програмами Microsoft Excel, Statistica 10. Тестування вибірок на їх відмінність та на відповідність нормальному закону розподілу проводилось із використанням статистичного пакету Statistica 10. Інші розрахунки і оформлення графічного матеріалу проводилось в електронних таблицях Microsoft Excel. Достовірність відмінностей визначали за t-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Аналіз результатів впливу свинцю у макроформі та у вигляді наноцитрату на організм вагітних самиць щурів за інтегральними показниками свідчить про порушення фізіологічного перебігу вагітності, більш вираженого для ацетату свинцю. Так, приріст маси тіла вагітних самиць, що зазнавали впливу ацетату свинцю, був нижчим в усі періоди вагітності, особливо на 2 та 3 тижнях, хоча без достовірних відмінностей (табл. 1). В той же час за весь період експерименту приріст маси виявився на 17,38 г ($p < 0,05$) або 9,55% нижчим порівняно з групою контролю при відсутності відмінностей порівняно з контролем у групі, що отримувала наноцитрат свинцю. Відмінності у динаміці розмірів тіла вагітних самиць експериментальних та контрольних груп відсутні.

Таблиця 1

Динаміка маси та розмірів тіла вагітних самиць, % ($P \pm m$)

Показник	Група тварин	Термін експерименту, дні			
		1-7 (1 тиждень)	7-14 (2 тиждень)	14-20 (3 тиждень)	1-20 (весь період)
Маса тіла	Контрольна	107,29 \pm 3,35	107,61 \pm 2,98	114,49 \pm 2,76	132,19 \pm 3,75
	Дослідна №1	106,56 \pm 3,47	105,66 \pm 3,59	109,40 \pm 3,5	122,64 \pm 3,76*
	Дослідна №2	106,55 \pm 2,24	108,05 \pm 2,35	114,31 \pm 4,21	131,6 \pm 4,79
Довжина тіла	Контрольна	102,77 \pm 0,98	102,07 \pm 1,0	103,25 \pm 0,96	108,3 \pm 0,97
	Дослідна №1	102,32 \pm 2,25	102,48 \pm 1,77	102,82 \pm 1,66	107,82 \pm 2,27
	Дослідна №2	102,54 \pm 1,51	102,07 \pm 1,41	103,51 \pm 1,49	108,34 \pm 1,66

Примітка: * - розбіжності з контрольною групою вірогідні ($p < 0,05$).

Ректальна температура тіла вагітних самиць щурів, яка є інтегральним показником загального стану організму, в усіх експериментальних групах практично не змінювалась, за середніми значеннями вона коливалася від 37,2 \pm 0,17 °C до 38,0 \pm 0,27 °C, що знаходиться в межах фізіологічної норми [12]. Проте, лише у тварин контрольної групи протягом всього терміну вагітності спостерігалось поступове зниження ректальної температури, що фізіологічно детерміновано змінами гормонального фону. Отже, відсутність фізіологічно нормальної динаміки ректальної температури при вагітності самиць щурів під

дією низьких доз свинцю може розглядатись як прояв його негативного впливу незалежно від неорганічної або органічної форми.

Введення ацетату свинцю протягом всього терміну вагітності призвело до збільшення ембріолетальності у 2,16 разів ($p < 0,01$) порівняно з групою контролю та становить $24,05 \pm 1,33\%$ та $11,11 \pm 4,43\%$ відповідно. Введення наноцитрату свинцю призвело до менш вираженого ембріолетального ефекту - загальна ембріональна смертність становить $14,81 \pm 4,68\%$, що обумовлює більшу чисельність плодів у посліді у дослідній групі №2 порівняно з введенням неорганічного свинцю - $8,63 \pm 0,80$ проти $7,5 \pm 0,53$ відповідно при показниках у групі контролю - $9,0 \pm 0,4$. Предімплантаційна смертність при введенні наноцитрату свинцю не відрізнялась від контрольної групи та була нижчою, хоча без достовірних відмінностей, ніж у групі, що отримувала ацетат свинцю. В той же час при введенні наноформ свинцю спостерігалось деяке збільшення показників постімплантаційної смертності як у порівнянні з контрольною групою, так і з групою, що отримувала ацетат свинцю.

Аналіз загальних показників розвитку плодів свідчить про відсутність достовірних відмінностей за показниками маси та краніокаудального розміру між контрольною та дослідними групами. В той же час спостерігається зниження маси та розмірів плаценти, що помітно вже при макроскопії (рис. 1)

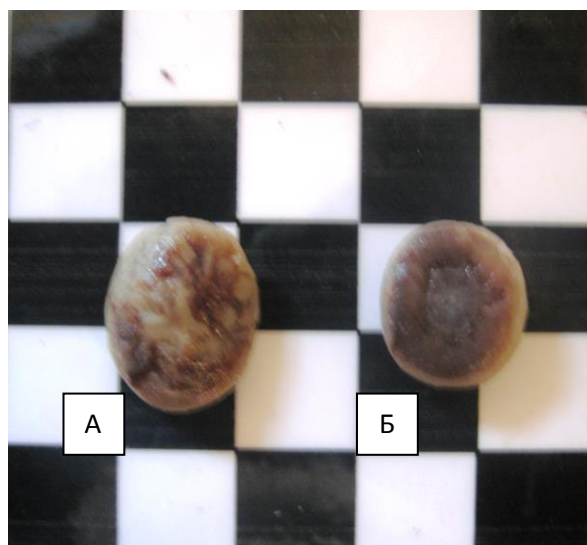


Рис. 1. Фотографія плацент вагітних самиць щурів дослідних груп, що отримували ацетат свинцю (А) та цитрат свинцю (Б) після фіксації у формаліні.

та підтверджується математично (табл. 2), особливо у групі, що отримувала цитрат свинцю - у 1,08 ($p < 0,05$) та 1,37 разу ($p < 0,001$) відповідно. Така ситуація обумовлює зниження плодово-плацентарного коефіцієнту в даній дослідній групі порівняно з групою, що отримувала ацетат свинцю та контрольною групою – 0,17 проти 0,24 та 0,25 відповідно. За даними [12] така величина коефіцієнту свідчить про зрілість фетоплацентарного комплексу і спостерігається наприкінці вагітності щурів, та обумовлена значним зростанням маси тіла плодів на 21-22 день, тобто перед пологамі. В той же час в наших дослідженнях при однаковому з іншими групами терміні вагітності маса тіла плодів залишалася практично незмінною при значно нижчих морфометричних показниках плаценти. Даний факт може свідчити про порушення плацентогенезу за умови впливу низьких доз свинцю, більш виражене при введенні його у формі наноцитрату. Головним механізмом такого впливу може бути ушкоджуюча дія свинцю на процеси фізіологічного розвитку плаценти, що сприяє зниженню об'єму окремих фетальних капілярів та відсотка фетальних судин плаценти. Таке ушкодження плаценти супроводжується зниженням її маси [13]. Проте дане припущення потребує більш глибоких досліджень з використанням гістологічних методів.

Таблиця 2

Показники загального розвитку плодів контрольної та дослідної груп ($M \pm m$)

Група тварин	Показники загального розвитку плодів				
	маса плоду, г	краніо- каудальний розмір	діаметр плоду, мм	маса плаценти, г	діаметр плаценти, см

		плоду, мм			
Контрольна	2,38±0,08	31,21±0,37	10,85±0,27	0,59±0,02	1,51±0,04
Дослідна №1	2,21±0,17	30,17±0,40	10,73±0,30	0,57±0,02	1,44±0,03
Дослідна №2	2,47±0,09	31,14±0,56	10,93±0,36	0,43±0,01**	1,40±0,02*

Примітки: * - розбіжності з контрольною групою достовірні ($p<0,05$);
 ** - ($p<0,001$).

Таким чином, встановлено, що надходження свинцю навіть у низьких дозах до організму вагітної порушує фізіологічний перебіг вагітності та призводить до порушення ембріонального розвитку потомства, більш вираженого при впливі макроформ свинцю за показниками загальної ембріональної смертності, в тому числі предімплантаційної та, відповідно, чисельності приплоду. В той час, як вплив наноцитрату свинцю призводить до збільшення постімплантаційної смертності, а також до більш вираженого порушення плацентогенезу.

Висновки

1. Свинець у низькій дозі призводить до порушення фізіологічного перебігу вагітності, за показниками динаміки маси тіла та ректальної температури, більш вираженого для неорганічних сполук токсиканта.
2. Як органічні, так і неорганічні сполуки свинцю негативно впливають на антенатальний розвиток потомства експериментальних тварин, що проявляється у збільшенні ембріональної смертності, погіршенні морфометричних показників плодів, порушенні плацентогенезу.
3. Вивчення особливостей загально- та ембріотоксичної дії свинцю у макроформі і у вигляді цитрату, отриманого за нанотехнологією свідчить про неоднозначність отриманих результатів. Більш виражений негативний вплив на загальний стан організму вагітної та ембріональний розвиток плодів за показниками ембріолетальності, в тому числі предімплантаційної, характерно для макроформ свинцю, в той час як вплив наноцитрату свинцю призводить до збільшення постімплантаційної смертності, а також до більш вираженого

порушення плацентогенезу. Таким чином, на даному етапі досліджень важко зробити однозначний висновок про порівняльні аспекти токсичності низьких доз макро- і наночасток свинцю на організм вагітних та антенатальний розвиток потомства щурів.

Отримані результати свідчать про необхідність подальшого вдосконалення систем і принципів досліджень взаємодії екотоксикантів з організмом як в умовах натурного, так і лабораторного експерименту, виявлення молекулярної природи порушення генеративної функції в цілому, прогнозування і ранньої діагностики її порушень, пошуку раціональних шляхів і систем профілактики, ефективної дезінтоксикації (фармакокорекції), особливо в плані використання природних антагоністів та сорбентів, що є перспективою наших досліджень.

Список літератури

1. Накопичення наночасток свинцю в організмі щурів / І.А. Лазаренко, Н.М. Мельникова, В.І. Максін // Сучасні проблеми токсикології. -2011.- №5.-С.60-61.
2. Гребняк М.П. Нанотехнологічні фактори ризику для здоров'я населення / М.П. Гребняк, О.Б. Єрмаченко // Довкілля та здоров'я. – 2001. – 31. – С. 52-55.
3. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин / [Сердюк А.М., Белицкая Э.Н., Паранько Н.М., Шматков Г.Г.]. – Днепропетровск: АРТ-ПРЕСС, 2004. – 148 с.
4. Луговський С.П. Комплексна токсиколого-гігієнічна оцінка свинцю як фактору малої інтенсивності (до патогенезу, діагностики та профілактики сатурнізму): Автореф. дис. ... д. мед. н.: 14.02.01 / С.П.Луговський. - К., 2012. - 36 с.
5. Lead exposure in pregnant women and newborns: a screening update / [Yazbeck C., Cheymol J., Dandres A.M., Barbéry-Courcoux A.L.] // Arch. Pediatr. – 2007. - Vol. 14, N 1. - P. 15 - 19.

6. Белецкая Э.Н. Биопрофилактика экозависимых состояний у населения индустриально развитых территорий / Э.Н.Белецкая, Т.А.Головкова, Н.М.Онул // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2011. - №3 (23). – С. 48-56.
7. Москаленко В.Ф. Нанотехнології, наномедицина, нанофармакологія: стан, перспективи наукових досліджень, впровадження в медичну практику / В.Ф.Москаленко, Л.Г.Розенфельд, Б.О.Мовчан, І.С. Чекман // І нац. конгр. «Человек и лекарство — Украина». — К., 2008. — С. 167–168.
8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasburg, 1986. – 53 p.
9. Лабораторні тварини в медико-біологічних експериментах / [Пішак В.П., Висоцька В.Г., Магальяс В.М. та ін.]. – Чернівці: Мед. Університет, 2006.- 350 с.
10. Динерман А.А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития / А.А. Динерман. – М.: Медицина, 1980. – 191 с.
11. Станишевская Т.И. Характеристика уровня основного обмена у белых крыс за пределами верхней границы нормы циркулирующего трийодтиронина / Т.И. Станишевская, В.И. Соболев // Ученые записки Таврического национального университета им. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62). - №1. – С. 105-112.
12. Шубина О.С. О взаимодействии в системе плацента-плод / О.С.Шубина, Н.А.Смертина // Успехи современного естествознания. - 2008. – №8. – С. 110.
13. Кашин А.С. Особенности действия экотоксикантов на репродуктивные функции продуктивных животных / А.С. Кашин, А.В. Оспищев, М.С. Москвитина // Проблемы современной аграрной науки: Матер. Междунар. заочной конференции. – 2008. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.kgau.ru/new/all/konferenc/01/>.

Резюме.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СВИНЦА В МАКРОФОРМЕ И В ФОРМЕ
ЦИТРАТА, ПОЛУЧЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
НАНОТЕХНОЛОГИЙ, НА ПРОТЕКАНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ И
АНТЕНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ КРЫС**

Э.Н.Белецкая, Н.М.Онул

В статье представлены результаты изучения влияния соединений свинца в макроформе и в виде цитрата, полученного с использованием нанотехнологий на эмбриогенез крыс. Установлено, что свинец даже в низких дозах обуславливает нарушение физиологического протекания беременности, антенатального развития потомства, что проявляется в увеличении эмбриональной смертности, ухудшении морфометрических показателей плодов, нарушении плацентогенеза.

Ключевые слова: свинец, эксперимент, эмбриотоксичность, влияние.

Summary.

**STUDY OF THE INFLUENCE OF LEAD IN MACROFORM AND AS A
CITRATE, RECEIVED BY NANOTECHNOLOGY, ON PREGNANCY AND
ANTENATAL DEVELOPMENT OF RATS**

E.N.Beletskaya, N.M.Onul

The article presents results on the effect of lead compounds in macroform and as a citrate, received by nanotechnology on embryogenesis in rats. It is revealed, that lead, even in a low doses, causes a violation of physiological pregnancy by the indexes of body weight and rectal temperature dynamic, more pronounced for inorganic compounds of toxicants as well as prenatal development of the offspring, which results in increased fetal mortality, worsening of morphometric parameters of fetuses, violation of placentogenesis.

Keywords: lead, experiment, embryotoxicity, influence.